

La coagulation

Citation for published version (APA):

Hemker, H. C., & Kahn, M. J. P. (1976). La coagulation: Physiologie et exploration. In *Encycl. Méd. Chir.* (Vol. 13000 C40, pp. 1-7). Éditions Techniques.

Document status and date:

Published: 01/12/1976

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

ENCYCLOPÉ
MÉDICO
CHIRURGA

18, RUE SEGUIER - PARIS

La coagulation

Physiologie et exploration

H.C. HEMKER

M.J.P. KAHN

Dans le domaine de la coagulation sanguine s'observent les plus fascinantes rencontres entre la médecine et la biochimie. D'une part la biochimie aide à comprendre les mécanismes de la thrombinoformation, tellement importants pour la médecine, et d'autre part la médecine offre par ses observations cliniques des expériences sans lesquelles le chercheur n'aurait pas pu dévoiler les mystères de la coagulation.

Comme le dit Maurois, « l'esprit de discipline ne mène pas en pays insoumis » : le médecin comme le biologiste doivent se donner la peine de pénétrer assez profondément dans la discipline voisine pour pouvoir comprendre les détails de la physiologie de la coagulation. Cela en vaut la peine. C'est pourquoi nous n'hésitons pas à aborder ce sujet en termes de biochimie, même pour un public de médecins.

La coagulation donne de beaux exemples de mécanismes biochimiques bien connus, telle l'activation d'une proenzyme en enzyme par protéolyse limitée. D'autre part elle offre des possibilités d'étude des interactions moléculaires jusqu'ici inconnues, comme le rôle des acides γ -carboxyglutamiques, les paraenzymes, l'activation en cascade d'enzymes, etc. L'aspect le plus fascinant de la coagulation physiologique est le déclenchement explosif de la thrombinoformation au niveau d'une plaie, uniquement limitée à cette région. Les réactions constituant la coagulation sont enchaînées de telle façon, qualitativement et quantitativement, que l'ensemble forme un système unique suivant une cinétique non linéaire. Ainsi la coagulation unit des exigences apparemment incompatibles, d'efficacité immédiate à l'endroit de la lésion et de fluidité continue là où il n'y a pas de lésion. Toute l'hémostase joue un rôle dans ce processus. La coagulation représente seulement une partie de ce phénomène. Elle se limite à la thrombinogénèse, l'inhibition de la thrombine et l'action de la thrombine sur le fibrinogène. La thrombine, outre son rôle dans le phénomène de la coagulation, joue un rôle actif dans l'hémostase.

■ La thrombine

• Pour que la formation de la thrombine se fasse à une vitesse normale, plusieurs conditions doivent être réunies :

- un taux plasmatique normal des différents facteurs de la coagulation dont le tableau I rappelle la nomenclature internationale et le tableau II, les propriétés;
- la présence de micelles de phospholipides à la surface desquels l'activation des facteurs de coagulation s'effectue;
- la présence d'ions calcium;
- un phénomène qui déclenche la chaîne des réactions d'activation.

• La thrombine transforme le fibrinogène en monomères de fibrine, qui se polymérisent spontanément en un réseau de fibrine polymérisé [1] : c'est le phénomène de coagulation.

Si la thrombine a un effet spectaculaire *in vitro*, elle possède *in vivo* d'autres fonctions tout aussi importantes.

- La thrombine active le facteur XIII. Celui-ci activé lie de façon covalente le réseau de fibrine par une transpeptidation entre les chaînes α et γ des monomères de fibrine [2].

I	Fibrinogène.
II	Prothrombine.
III	Thromboplastine tissulaire.
IV	Calcium (Ca^{++}).
V	Proaccélélerine.
VI	Accélélerine.
VII	Proconvertine.
VIII	Facteur antihémophilique A.
IX	Facteur antihémophilique B.
X	Facteur Stuart.
XI	Plasma thromboplastin antécédent (Rosenthal), improprement appelé facteur antihémophilique C.
XII	Facteur Hageman.
XIII	Facteur de stabilisation de la fibrine.

Facteurs plus récemment identifiés :

- Facteur Fletcher ou prékallicréine.
- Facteur Fitzgerald ou facteur Fleaujac ou facteur Williams.

Tableau I. — Nomenclature des facteurs de la coagulation

Facteurs	Poids moléculaire	Dépendance de la vitamine K pour la synthèse	Adsorption par : - SO ₄ Ba - Alumine - Phosphate tricalcique	Consommation au cours de la coagulation
I	340 000	non	non	oui
II	72 000	oui	oui	oui
V	# 290 000	non	non	oui
VII	59 000	oui	oui	non
VIII		non	non	oui
IX	55 000	oui	oui	non
X	55 000	oui	oui	non
XI		non	partielle	non
XII	# 80 000 ± 20 000	non	partielle	non
XIII	340 000	non	non	oui

Tableau II. — Principaux caractères des facteurs de la coagulation.

• La thrombine provoque aussi une forte réaction de libération des constituants plaquettaires. Elle provoque la libération de phospholipides ainsi que la transformation du clou thrombocytaire réversible en clou thrombocytaire irréversible [3].

• La thrombine active également le facteur V [4, 5] et le facteur VIII [6]. Cette activation indique que le processus de la coagulation est un phénomène *autocatalytique*. De plus, comme les facteurs V et VIII activés sont plus labiles que les facteurs non activés, la coagulation est un phénomène qui se limite lui-même.

• La thrombine provient de la transformation de la prothrombine par un complexe à action enzymatique : la prothrombinase.

La thrombine, d'un poids moléculaire d'environ 37 000 daltons, est constituée de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne A (poids moléculaire de 5 700 daltons) [6] et la chaîne B (poids moléculaire de 32 000 daltons) [7] liées par un pont disulfure. La séquence des acides aminés est connue [8]. La chaîne B présente des analogies de structure avec des protéases comme la chymotrypsine, la trypsine, l'élastase, et la cholinestérase. Notamment, au résidu n° 195, on trouve une sérine qui joue un rôle central dans le mécanisme amidolytique et estérolytique.

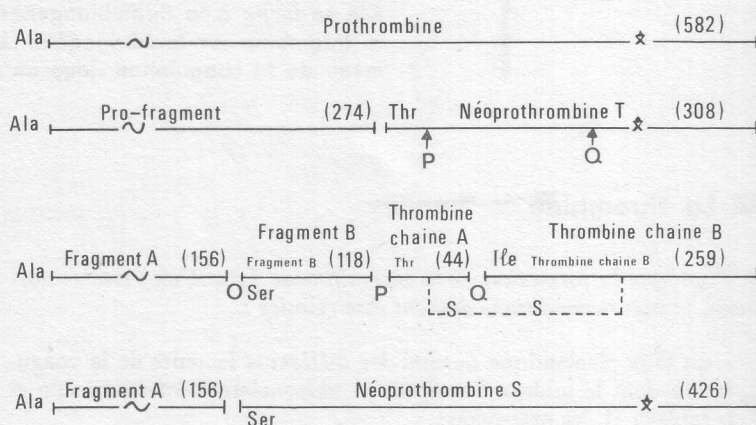
Comme les autres sérine-peptidases (sérine-estérases) la thrombine est inactivée par des substances qui l'estérifient, tel le diisopropylfluorophosphate. Il existe des inhibiteurs plus spécifiques de la thrombine : l'hirudine [9], provenant de la sangsue, et l'héparine [10] qui inactive aussi les facteurs Xa, IXa et XIa (VIIa ?). Bien que l'héparine se lie directement à la thrombine, son action la plus importante est de potentialiser l'antithrombine III. En présence d'héparine l'inactivation de la thrombine et des autres facteurs estératiques de la coagulation (voir ci-dessous) se fait beaucoup plus vite [11].

thrombine ne se produit pas en solution libre, mais quand elle est adsorbée à la surface d'une micelle de phospholipide;

• la différence la plus intéressante entre la prothrombine et d'autres zymogènes réside dans le fait que la prothrombine contient cinq paires d'acides γ -carboxyglutamiques : ceux-ci se trouvent dans la partie de la molécule qui ne se transforme pas en thrombine ; ces résidus ont la capacité de fixer des ions Ca^{++} et, de cette façon, de lier la molécule de la prothrombine par l'intermédiaire du Ca^{++} à la surface d'une micelle de phospholipide [12].

Transformation de la prothrombine en thrombine

La figure 1 donne un schéma de la prothrombine et de son activation [8].



★ Sérine active

~ Acide γ -carboxy glutamique

1

Schéma de la prothrombine et de son activation.

Ala = alanine; Thr = thréonine; Ser = sérine; Ile = isoleucine; O, P, Q = liaisons sensibles à une protéolyse limitée. Les flèches P et Q indiquent les lieux d'action de la prothrombinase sur la molécule de prothrombine. Les nombres indiquent le nombre total d'acides aminés dans les différents fragments.

La prothrombine

La prothrombine est le zymogène de la thrombine. Son poids moléculaire est de 72 000 daltons. Comme pour le chymotrypsinogène la forme activée de l'enzyme est formée par protéolyse limitée. Il y a pourtant des différences importantes entre les modes d'activation :

• d'abord la prothrombine perd une partie considérable de sa molécule lors de son activation;

• des « profragments » ou fragments d'un poids moléculaire total d'environ 33 500 daltons sont des produits auxiliaires de la thrombinoformation [7, 8], normalement l'activation de la pro-

Pour que la thrombine se forme, les sites vulnérables P et Q de la prothrombine doivent être scindés par la prothrombinase ou — en cas d'activation non physiologique — par d'autres moyens (venins de serpent) (fig. 1). Le profragment peut encore être scindé au niveau du site O par la thrombine elle-même.

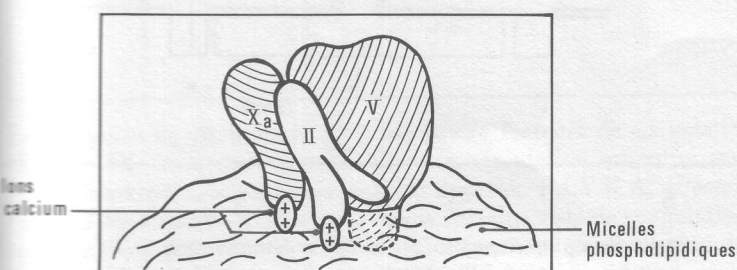
Sous certaines conditions, les fragments A et B ont une action inhibitrice sur la thrombinoformation; leur importance physiologique n'est pas connue. L'action de la thrombine au niveau du site O de la prothrombine provoque la formation du fragment A et de la néo-prothrombine S. La néo-prothrombine S peut être convertie en thrombine par la prothrombinase mais seulement très lentement.

Ainsi la thrombinoformation est freinée par son propre produit. L'importance de cette inhibition dans des conditions physiologiques doit encore être déterminée. *In vitro*, la prothrombine peut être activée par des enzymes protéolytiques qui agissent en solution libre, comme par exemple une protéase du venin du serpent *Echis carinatus* (Ecarin) [13] ou celle du venin de vipère *Taipan* [14]. Cette action est particulièrement intéressante parce qu'elle se développe aussi bien avec ou sans la présence d'acides γ -carboxyglutamiques. Comme on le verra cela implique qu'en présence de ce venin, la thrombine se forme à partir de la prothrombine anormale produite par la prise des anticoagulants oraux (antivitamines K). La staphylocoagulase, une exoprotéine de certaines souches du *Staphylococcus aureus*, forme un complexe bimoléculaire avec la prothrombine [15]. Dans ce complexe, la chaîne polypeptidique de la prothrombine n'est pas scindée mais la structure tertiaire autour de la sérine active est tellement altérée qu'un centre actif protéolytique en résulte. Pour cette action aussi, les acides γ -carboxyglutamiques ne sont pas nécessaires.

La prothrombinase et l'action des phospholipides

Les micelles de phospholipides jouent un rôle important dans la séquence des réactions menant à la thrombinoformation. Ils offrent une interface hydrolipidique sur laquelle les facteurs de coagulation peuvent être adsorbés et où ils interagissent.

La prothrombinase est l'exemple le mieux étudié de ces interactions. Il a été démontré que les facteurs V et Xa (c'est-à-dire le facteur X activé) sont adsorbés à la surface des micelles de phospholipide, de même que le facteur II [16]. Le facteur Xa comme le facteur II possèdent des acides γ -carboxyglutamiques. Ils se lient par ces acides et des ions calcium à des sites anioniques de ces micelles. Ceci explique partiellement la corrélation entre la charge d'un phospholipide et l'activité procoagulante de celui-ci. Le facteur V se lie par des interactions hydrophobes. Des micelles de phospholipides homogènes sont beaucoup moins activées que des micelles mixtes, probablement parce qu'avec une mosaïque de sites anioniques (pour les facteurs II et Xa) et hydrophobes (pour le facteur V), la prothrombinase se forme plus aisément. La cinétique de la formation de la prothrombinase est en accord avec l'hypothèse selon laquelle une molécule du facteur Xa s'adsorbe à côté d'une molécule du facteur V et qu'ainsi se forme un complexe ayant une activité protéolytique vis-à-vis de la prothrombine (fig. 2) [17].



2

Modèle du complexe prothrombine-prothrombinase.

La prothrombine s'attache à ce complexe parce qu'elle se lie au phospholipide par ses acides γ -carboxyglutamiques contenus dans le fragment A et au facteur V par ceux contenus dans le fragment B [18].

Cette liaison limite la liberté de mouvement du facteur II de telle manière que le site actif du facteur Xa trouve aisément les sites sensibles (fig. 1, P et Q) du facteur II; il en résulte une augmentation d'efficacité de l'action du facteur Xa. Le facteur Xa en solution libre peut également activer la prothrombine mais mille fois plus lentement que le complexe du facteur Xa avec le facteur V et les phospholipides.

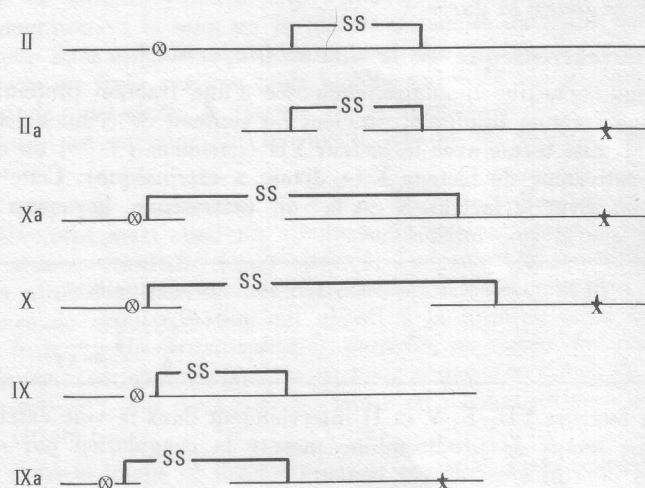
La thrombinoformation

La voie intrinsèque de la thrombinoformation

Le facteur Xa est une sérine-estérase comme la thrombine. Il est composé de deux chaînes liées par un pont disulfure :

- la chaîne lourde, comme la chaîne B de la thrombine, contient le site sérine qui joue un rôle important dans le mécanisme de protéolyse partielle ;
- la chaîne légère contient la partie du zymogène possédant les acides γ -carboxyglutamiques [19, 21].

C'est aisément compréhensible : tandis que la thrombine agit en solution libre, le facteur Xa, pour exercer son rôle, doit être lié au complexe de la prothrombinase, c'est-à-dire qu'il doit être capable de se fixer aux micelles phospholipidiques. En effet les quatre facteurs II, VII, IX et X sont très comparables [8]. Ce sont des proenzymes des sérine-estérases. Le fragment carboxyl terminal contient le site actif et est analogue à des enzymes comme la chymotrypsine. Tous contiennent des acides carboxyglutamiques dans leur partie aminoterminal. Celles-ci montrent par ailleurs d'autres analogies de structure. Tous sont synthétisés de la même manière (voir plus bas). La figure 3 indique de façon schématisque la structure des facteurs II, IX et X. Le facteur VII, dont la structure est encore partiellement hypothétique, n'est pas représenté dans ce schéma.

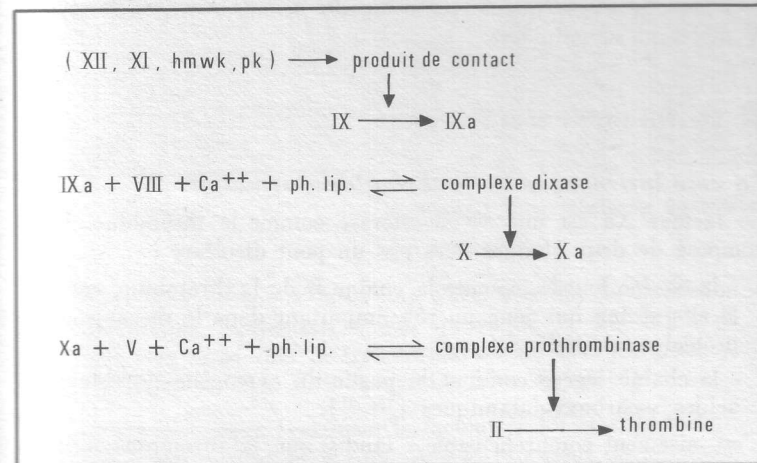


3

Analogies de structure chimique entre certaines protéases de la coagulation.

Le facteur X est transformé en facteur Xa sous l'influence d'un complexe activateur du facteur X (« dixase ») qui est très semblable à la prothrombinase. Les facteurs IXa et VIII prennent la place des facteurs Xa et V [22, 25]. Pour que le facteur IX puisse servir dans ce complexe, il est nécessaire qu'il soit activé à son tour : il l'est par le produit de contact.

Le produit de contact prend naissance par l'interaction de quatre facteurs [26, 29] : le facteur Fletcher (ou prékallicréine, ou pk), le facteur Fitzgerald ou Fleaujac ou Williams (ou *high molecular weight kininogen*, ou hmwk), le facteur XI et le facteur XII. Cette réaction est catalysée par une surface étrangère comme par exemple une surface de verre. La séquence de la réaction ainsi ébauchée constitue la voie *intrinsèque* de la thrombinoformation. Elle est schématisée dans la figure 4.



4

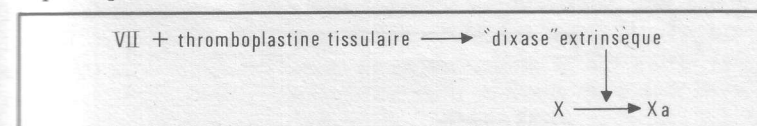
Séquence des réactions de la thrombinoformation intrinsèque.

Les facteurs V et VIII purifiés ne présentent aucune activité enzymatique avant ou après leur participation à la thrombinoformation. Nous les avons baptisés « paraenzymes », indiquant par là qu'ils jouent un rôle important à côté des enzymes proprement dites, quoique ne possédant pas eux-mêmes des centres actifs. La thrombine peut agir sur ces facteurs de façon à leur donner une activité plus importante en même temps qu'une labilité prononcée.

Ainsi la thrombine catalyse sa propre formation en même temps qu'elle en limite la durée.

La voie extrinsèque de la thrombinoformation

La thromboplastine tissulaire, composée d'une fraction protéinique et d'une fraction lipidique, provient du contenu de cellules détruites [31]. Elle forme avec le facteur VII également [30, 32] un complexe activateur du facteur X (« dixase » extrinsèque). Cette manière d'activer le facteur X est la voie extrinsèque, beaucoup plus rapide que la voie intrinsèque.

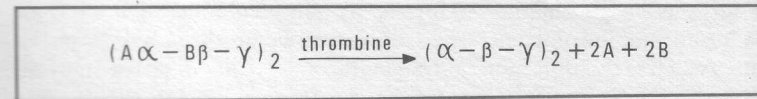


- Les facteurs VII, X, V et II interviennent dans la voie extrinsèque. Le temps de prothrombine mesure la coagulation par cette voie et dépend ainsi de ces facteurs.
- Le temps de recalcification et le temps de thromboplastine partielle mesurent la voie intrinsèque. Ils mesurent l'activité des facteurs VIII et IX et des facteurs de la phase de contact, mais pas celle du facteur VII.

■ Le fibrinogène et la fibrinoformation

Tous les détails de la structure du fibrinogène ne sont pas encore connus. Cependant nous pouvons donner — sous réserve — un schéma global suffisamment détaillé pour servir de base à une compréhension de la fonction [33, 36].

La molécule se compose de six chaînes polypeptidiques identiques deux à deux. Ce sont les chaînes Aα, Bβ, γ. Les chaînes α, β, γ sont liées dans leur région aminoterminal par des ponts disulfures. Le schéma suivant représente la transformation du fibrinogène en fibrine :



La chaîne γ ne contient pas de site sensible à l'action de la thrombine et par conséquent ne contient pas de fibrinopeptide libérable par celle-ci. Les fibrinopeptides A et B sont séparés de l'extrémité amino-terminale des chaînes α et β du fibrinogène par l'action de la thrombine [37, 40]. La structure de la chaîne Aα n'est pas homogène chez l'homme, il en existe trois variétés : outre la chaîne Aα, on connaît une variété APα (20 %) et une variété AYα (10 %). Il existe également un fibrinogène fœtal chez le nouveau-né.

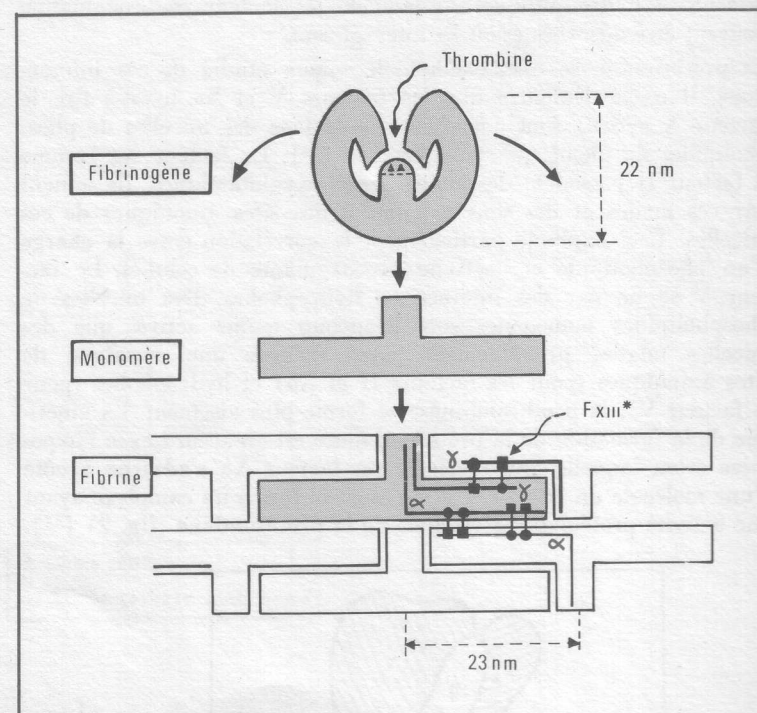
Le produit (α-β-γ)₂ ou monomère de fibrine est capable de se polymériser spontanément pour former la fibrine polymérisée. Cette polymérisation peut déjà commencer quand le fibrinopeptide A est séparé de la molécule de fibrinogène. La reptilase détruit uniquement le fibrinopeptide A. Elle agit selon le schéma suivant :



et permet également une polymérisation.

Schématiquement la polymérisation du fibrinogène peut être illustrée de la manière suivante (fig. 5).

Le polymère ainsi constitué est toujours soluble dans l'urée ou l'acide monochloracétique, il ne l'est plus après l'action du facteur XIII. Par l'action de la thrombine sur une proenzyme plasmatique, le facteur XIII est transformé [41, 42] en une transglutaminase qui provoque la formation d'une liaison entre un résidu lysine d'un monomère et un résidu glutamine d'un autre monomère. Les premières liaisons se forment entre les chaînes γ, ensuite entre les chaînes α [43, 46]. Toutes ces liaisons se forment dans la partie C



5

Schéma du fibrinogène et de sa polymérisation.

FXIII* = facteur XIII activé.

Les lettres γ et α indiquent les sites d'action du facteur XIII activé conduisant à la formation de γ-dimères et d'α-polymères.

terminale des chaînes α et γ du fibrinogène. Une déficience en facteur XIII entraîne comme symptôme majeur un défaut de cicatrisation des plaies plus que les symptômes d'une diathèse hémorragique.

■ Inhibiteurs de la coagulation

À côté des substances procoagulantes, il existe aussi des inhibiteurs. Les substances les plus importantes de ce groupe sont l'antithrombine III, l' α_2 -macroglobuline et l' α_1 -antitrypsine.

L'antithrombine III inhibe plus spécifiquement les facteurs de coagulation déjà activés. En effet elle neutralise non seulement la thrombine mais aussi les facteurs Xa, IXa et XIa. Cette action est potentialisée par l'héparine. Le mécanisme de la neutralisation peut se résumer ainsi :

- seuls les facteurs activés sont inhibés ;
- la génération des facteurs activés est explosive, c'est-à-dire que pendant un certain temps, la formation est beaucoup plus rapide que l'inactivation ; cela permet l'existence de facteurs activés pendant un temps assez bref.

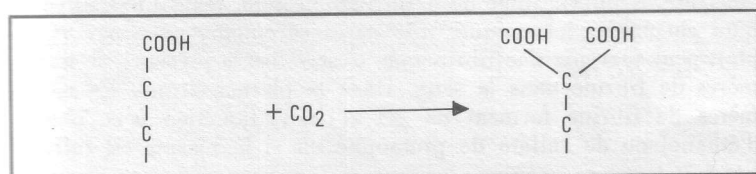
De plus, la génération des facteurs activés dépend d'un trouble local de l'arbre vasculaire alors que les inactivateurs y sont présents partout, ce qui explique la localisation de la thrombinoformation. Des déficiences totales de l'antithrombine III ne sont pas connues, vraisemblablement parce que cette condition est létale. Cependant, des déficiences congénitales partielles ont été décrites : le taux de l'antithrombine III y est réduit à 50 % de la normale. Dans ces cas, on observe de nombreuses et fréquentes thromboses, ce qui démontre l'extrême importance des facteurs inhibiteurs.

■ La synthèse des facteurs de la coagulation

- Les facteurs de la coagulation sont tous synthétisés dans le parenchyme hépatique, à l'exception du facteur VIII qui est synthétisé dans tout l'endothélium vasculaire.
- La synthèse des facteurs de la coagulation ne semble pas dépendre de leur concentration plasmatique.
- La synthèse des facteurs II, VII, IX et X est sous l'influence de la vitamine K.

Celle des facteurs I, V, XI et XII ne l'est pas.

Le rôle de la vitamine K est de carboxyler une dizaine d'acides glutamiques qui se trouvent à l'extrémité aminoterminal de la prothrombine et des facteurs VII, IX et X. Comme nous l'avons vu, ces résidus modifiés jouent un rôle important dans le mécanisme de la thrombinoformation. Cette modification prend place à un stade postribosomal de la synthèse de la prothrombine. Un système d'enzymes hépatocellulaires localisé dans les microsomes est capable, par l'intermédiaire de la vitamine K, de fixer du CO_2 en position γ sur des acides glutamiques :



En l'absence de vitamine K [51], les quatre facteurs de coagulation II, VII, IX et X sont excrétés dans la circulation sanguine sous forme inactive. Ces protéines ont été appelées P.I.V.K.A. (*Protein Induced by Vitamin K Absence*). Dans certains tests de coagulation, ces protéines provoquent une inhibition par compétition avec les facteurs de coagulation. De plus ces facteurs de coagulation anormaux peuvent développer une activité coagulante normale sous l'influence du venin de serpent et de la staphylocoagulase.

Les tests d'exploration

Les maladies de la coagulation comprennent des déficits congénitaux et des déficits acquis par trouble de la production ou par excès d'utilisation. Enfin, différents inhibiteurs pathologiques (anticoagulants circulants) peuvent apparaître au cours de l'hémophilie ou chez des malades exempts auparavant de diathèse hémorragique.

Pour juger la fonction hémostatique d'un patient, il faut pouvoir disposer d'un groupe de tests qui constitue une exploration à minima. Un tel groupe d'examen de laboratoire comprend : la numération des plaquettes, le temps de saignement, la rétractilité du caillot, l'hématocrite (qui ne seront pas discutés ici parce qu'ils sont traités ailleurs *), le temps de coagulation (ou plutôt une de ses modifications standardisées), le temps de prothrombine, le temps de thrombine, la concentration en fibrinogène, la solubilité du caillot dans l'urée. Souvent aucune anomalie n'est décelée par ces investigations lors d'une diathèse hémorragique. On peut ignorer une maladie de Willebrand atténuée si le patient est soumis à un stress ou a fait un effort immédiatement avant la prise de sang. Une anémie augmente fortement le taux du facteur VIII, et ainsi, chez un hémophile légèrement atteint, peut masquer l'anomalie de la coagulation. Un temps de saignement situé à la limite inférieure de la normale doit conduire certainement à un examen plus complet de la fonction plaquettaire.

■ Le temps de coagulation

De nombreuses techniques permettent la mesure du temps de coagulation du sang total. Un point important est l'élimination de la première portion du sang ponctionné parce que celle-ci contient certainement des traces de thromboplastine tissulaire dues à la blessure vasculaire. D'ailleurs, pour toutes les études de la voie intrinsèque, il ne faut jamais utiliser les premiers millilitres de sang obtenus par ponction veineuse.

Certains aspects de la coagulation, tels le début de la fibrinoformation, la vitesse à laquelle le caillot se forme, et sa qualité, c'est-à-dire sa solidité, peuvent être visualisés à l'aide d'un thromboélastogramme : le sang ou le plasma recalcifié est placé dans une cuvette dans laquelle se trouve un cylindre qui pend à un fil. La cuvette est fixée sur une table mobile, qui a un mouvement circulaire de va-et-vient. À mesure de la formation de la fibrine, le cylindre est entraîné par la cuvette, ce qui est enregistré sur un film.

Le temps de coagulation peut être déterminé directement après prélèvement mais aussi en ajoutant du calcium ionisé (CaCl_2) à du plasma décalcifié (sang citraté). Le temps de recalcification peut ainsi être obtenu dans des conditions standardisées. Les tentatives de standardisation ont abouti à la mise au point de tests tels le temps de thromboplastine partielle, ou temps de céphaline, et le temps de thromboplastine partielle activée, ou temps de céphaline activée ; tous deux sont des temps de recalcification d'un plasma citraté :

- dans le temps de thromboplastine partielle, l'addition de phospholipides à du plasma permet d'éliminer l'intervention des plaquettes ;
- dans le temps de thromboplastine partielle activée, la phase de contact a été standardisée par l'adjonction de substances tels le kaolin, la célite ou l'acide ellagique ; les valeurs normales dépendent des réactifs, de la propreté des tubes de verre, etc., lors de l'intégration des résultats, il faut tenir compte de sources possibles d'erreurs :
- la présence d'une trace de thromboplastine tissulaire due à une mauvaise ponction veineuse,

* Cf. Physiologie de l'hémostase primaire.

- l'activation non contrôlée des étapes initiales de la coagulation (utiliser des tubes en matière plastique ou du verre silicé pour le prélèvement de sang),
- une valeur anormale de l'hématocrite :
- le temps de coagulation à l'aide de sang citraté est trop court pour un hématocrite trop bas ;
- pour un hématocrite élevé, la concentration en citrate du plasma est modifiée et les déterminations ne sont pas fiables.

Les phénomènes biologiques qui peuvent influencer le temps de coagulation sont l'effort, le stress et l'anémie (augmentation du facteur VIII).

Parce que seul le point final de la réaction peut être mesuré après qu'un grand nombre de réactions enzymatiques se soit passé, il ne faut pas s'attendre à une grande sensibilité de la méthode décrite. Un temps de coagulation normal ne permet pas d'éliminer une hémophilie atténuée. L'allongement du temps de coagulation associé à celui du temps de thrombine traduit la présence d'héparine. Le temps de coagulation du sang total et le temps de recalcification sont de lecture difficile dans les cas de thrombocytopénie et il est alors indiqué d'utiliser le temps de thromboplastine partielle activée ou non. En présence d'une anomalie de la voie intrinsèque de la coagulation, il faut déterminer l'activité des facteurs de coagulation VIII, IX, XI et XII.

S'il est clair (sur la base de l'anamnèse) que l'on n'est pas en présence d'un trouble congénital, une déficience du facteur VIII doit être attribuée à la présence d'anticorps inactivant ce facteur. Il faut alors déterminer l'activité du facteur VIII dans un mélange de plasma normal et de plasma du patient après une incubation à 37° C plus ou moins longue (de 1 à 4 heures). La diminution franche de l'activité facteur VIII dans ce mélange signe la présence d'un anticorps. Cette méthode est aussi utilisée chez les hémophiles pour déterminer la présence ou l'absence d'anticorps circulants.

Si tous les facteurs de la coagulation sont abaissés, la présence d'un antiphospholipide, comme cela peut être observé dans le lupus érythémateux disséminé, est hautement probable.

■ Le temps de prothrombine

Le temps de prothrombine (temps de Quick) est une estimation globale de tout le système extrinsèque (VII, X, V, II et le fibrinogène).

Le temps de Quick mesure la vitesse de formation d'un caillot à 37 °C après addition à du plasma citraté d'une thromboplastine complète (phospholipide avec facteur tissulaire) et de calcium.

Les valeurs normales diffèrent selon le réactif thromboplastine utilisé. De plus, la sensibilité vis-à-vis des différents facteurs dépend de la thromboplastine choisie. En particulier, la sensibilité de la thromboplastine à l'activité du facteur VII varie beaucoup. La sensibilité vis-à-vis de l'action inhibitrice de PIVKA-X varie énormément de préparation à préparation.

Les sources d'erreurs sont aussi dans ce cas :

- mauvaise ponction veineuse,
- valeur anormale de l'hématocrite,
- activation par contact non contrôlée,
- activation par le froid (il ne faut pas conserver le sang à + 4 °C),
- trop longue conservation du sang (facteur V = facteur labile).

L'utilisation dans le test de dilutions de thromboplastine (1/10 et 1/100) peut également servir à déceler une antithromboplastine comme on peut en observer dans certaines maladies auto-immunes. En présence d'antithromboplastine, on peut s'attendre à observer une inhibition, c'est-à-dire des temps de coagulation relativement plus longs en fonction du degré de dilution de la thromboplastine.

A certaines préparations de thromboplastine (par exemple le Thrombotest®), on a ajouté du facteur V de telle manière que ces préparations sont surtout destinées au contrôle d'une thérapeutique

anticoagulante orale. En effet, le facteur V n'est pas influencé par cette thérapeutique.

Il faut s'attendre dans toutes les atteintes du parenchyme hépatique à un allongement du temps de Quick et, de fait, ce test est une assez bonne mesure du fonctionnement hépatique. Ceci à condition bien entendu, que le patient ait suffisamment de vitamine K.

Pour différencier une atteinte du parenchyme hépatique d'une déficience en vitamine K (ou des effets des dérivés coumariniques), il est utile de déterminer l'activité du facteur V, qui est indépendante de la présence de vitamine K mais qui est bien fonction de l'état du parenchyme hépatique. La détermination du facteur V peut ainsi estimer la fonction hépatique chez des patients traités par la coumarine.

Dans les autres déficiences héréditaires des facteurs de la coagulation de la voie extrinsèque (II, X, V), le temps de coagulation est aussi allongé, comme il l'est pendant le traitement anticoagulant et dans la coagulation intravasculaire disséminée.

■ Le temps de thrombine

Une petite quantité de thrombine est ajoutée à du plasma et le temps de coagulation est mesuré. La concentration de thrombine est choisie de telle manière que le temps de coagulation soit allongé en présence d'une activité antithrombinique. La fibrinogène servant de substrat adsorbe la thrombine et la fibrine, elle est d'ailleurs considérée comme une antithrombine : cela est démontré par un léger allongement du temps de thrombine dans les cas d'hyperfibrinogénémie. La présence de produits de dégradation de la fibrine ralentit aussi la vitesse de transformation du fibrinogène par la thrombine. Quand la concentration plasmatique du fibrinogène est inférieure à 100 mg % (1 g/l), un allongement du temps de thrombine est observé. *Il n'est pas possible d'interpréter un temps de thrombine sans connaître la concentration du fibrinogène.* Un allongement du temps de thrombine est observé en cas d'ictère, d'urémie, d'hypergamma-globulinémie et de paraprotéïnémie (même relative). La présence d'une molécule de fibrinogène anormale (c'est-à-dire dysfibrinogénémie congénitale ou acquise) s'accompagne également d'une élévation du temps de thrombine.

Le test est très sensible à l'héparine. La protamine, antidote de l'héparine, permet la mesure de la concentration en héparine d'un plasma. Le temps de thrombine n'est pas sensible aux variations du taux d'antithrombine III. On détermine la quantité d'antithrombine III par immuno-électrophorèse selon LAURELL. L'activité de l'antithrombine est déterminée par la vitesse de disparition de l'activité de la thrombine ajoutée au matériel étudié. Un temps de thrombine trop court doit faire penser à une fibrinémie pour laquelle des tests de paracoagulation peuvent être effectués.

■ Fibrinogène, fibrine, produits de dégradation

Au cours d'un syndrome de défibrination aigu, mais aussi au cours d'un phénomène chronique (métastases carcino-mateuses par exemple), peut survenir une fibrinémie, c'est-à-dire la présence de monomères de fibrine dans le sang. Dans le plasma citraté, les monomères de fibrine forment un gel après l'adjonction à ce plasma d'éthanol ou de sulfate de protamine ou si le plasma est refroidi (± 4 °C).

Comme les produits de dégradation de la fibrine de haut poids moléculaire possèdent les mêmes déterminants antigéniques que le fibrinogène, il est facile de déterminer leur présence par des méthodes immunologiques à l'aide d'anticorps dirigés contre le fibrinogène. Il faut empêcher la dégradation du fibrinogène après la prise de sang ; c'est pourquoi il faut immédiatement mélanger le sang à un antifibrinolytique tel l'acide ϵ -aminocaproïque. Après la coagulation accélérée par l'adjonction de thrombine ou de thrombo-

plastine tissulaire, le sérum est examiné. Différentes méthodes ont été proposées : l'agglutination de particules de latex recouvertes d'anticorps, l'immunodiffusion, l'électro-immunodiffusion ou l'inhibition de l'hémagglutination.

Dans le sérum normal, on peut trouver jusqu'à 10 μ g d'équivalent fibrinogène par ml. Un taux plus élevé a toujours une signification clinique. Il peut s'observer même en cas de résultats normaux de l'exploration *a minima* proposée. Il existerait dans ce cas une coagulation intravasculaire disséminée évoluant à bas bruit sans consommation excessive. Cette situation est particulièrement dangereuse, surtout si une intervention chirurgicale est prévue : celle-ci

pourrait déclencher une coagulation intravasculaire disséminée grave.

Une image complète de coagulation intravasculaire disséminée comprend une chute importante du nombre de plaquettes avec un temps de saignement fort allongé, un temps de prothrombine allongé et un temps de coagulation allongé par manque de facteurs II, V et VIII, un temps de thrombine allongé, une fibrinogénopénie et un taux élevé de produits de dégradation de la fibrine.

Le facteur stabilisant de la fibrine (facteur XIII) est absent en l'absence d'anamnèse, indiquant des troubles de la cicatrisation des plaies. Le caillot est soluble dans l'urée.

index bibliographique

- [1] DOOLITTLE R.F. — Structural aspects of the fibrinogen to fibrin conversion. — *Adv. Protein. Chem.*, 1973, 27, 1-109.
- [2] FOLK J.E. et CHUNG S.I. — Molecular and catalytic properties of transglutaminases. — *Adv. Enzymol.*, 1973, 38, 109-191.
- [3] BOOYSE F.M. et RAFELSON M.E. — Regulation and mechanism of platelet aggregation. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1972, 201, 37-60.
- [4] PAPAHDJOPOULOS D., HOUGIE C. et HANAHAN D.J. — Purification and properties of bovine factor V : a change of molecular size during blood coagulation. — *Biochemistry (Wash.)*, 1964, 3, 264-270.
- [5] COLMAN R.W. — The effect of proteolytic enzymes on bovine factor V. - I. Kinetics of activation and inactivation by bovine thrombin. — *Biochemistry (Wash.)*, 1969, 8, 1438-1445.
- [6] LEGAZ M.E., WEINSTEIN M.J., HELDEBRANT C.M. et DAVIE E.W. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1975, 240, 43-61.
- [7] HELDEBRANT C.M., BUTKOWSKI R.J., BAJAJ S.P. et MANN K.G. — *J. Biol. Chem.*, 1973, 248, 7149-7163.
- [8] MAGNUSSON S. — In Prothrombin and related coagulation factors. Eds. H.C. HEMKER, J.J. VELTKAMP. — Leiden Univ. Press, 1975, 25-46.
- [9] MARKWARDT F. — Blutgerinnungshemmende Wirkstoffe aus blutsaugenden Tieren. — Jena V.E.B. Gustav Fischer, 1963, 1-122.
- [10] ROSENBERG R.D. et DAMUS P.S. — The purification and mechanism of action of human antithrombin-heparin cofactor. — *J. Biol. Chem.*, 1973, 248, 6490-6505.
- [11] ROSENBERG J.S., McKENNA P.W. et ROSENBERG R.D. — *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, 8883-8888.
- [12] STENFLO J., FERLUND P., EGAN W. et ROEPSTORFF P. — Vitamin K dependent modifications of glutamic acid residues in prothrombin. — *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1974, 71, 2730-2733.
- [13] SCHICK A., KORNALIK F. et HABERMANN E. — *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1972, 272, 402-418.
- [14] OWEN W.G. et JACKSON C.M. — *Thrombos. Res.*, 1973, 3, 705-714.
- [15] BAS B.M., MULLER A.D. et HEMKER H.C. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1974, 379, 164-171.
- [16] JACKSON C.M., ESMON Ch. T., GITEL S.N., OWEN W.G. et HENRIKSEN R.A. — In Prothrombin and related coagulation factors. Eds. H.C. HEMKER, J.J. VELTKAMP. — Leiden Univ. Press, 1975, 59-88.
- [17] HEMKER H.C., ESNOUF M.P., HEMKER P.W., SWART A.C.W. et MAC FARLANE R.G. — Formation of prothrombin converting activity. — *Nature (Londres)*, 1967, 215, 248-251.
- [18] ESMON C.T., OWEN W.G., DUGUID D.L. et JACKSON C.M. — The action of thrombin on blood clotting factor V : conversion of factor V to a prothrombin-binding protein. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1973, 310, 289-294.
- [19] FUJIKAWA K., LEGAZ M.E. et DAVIE E.W. — Bovine factors XI and XII (Stuart factor). Isolation and characterization. — *Biochemistry*, 1972, 11, 4882-4891.
- [20] JACKSON C.M. — Characterization of two glycoprotein variants of bovine factor X and demonstration that the factor X zymogen contains two polypeptide chains. — *Biochemistry*, 1972, 11, 4873-4882.
- [21] ENFIELD D.L., ERICSON L.H., WALSH K.A., NEURATH H. et TITANI K. — *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1975, 72, 16-19.
- [22] HOUGIE C., DENSON K.W. et BIGGS R. — A study of the reaction product of factor VIII and factor IX by gel filtration. — *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1967, 18, 211-222.
- [23] OSTERUD B. et RAPAPORT S.I. — Synthesis of intrinsic factor X activator-inhibition of the function of formed activator by antibodies to factor VIII and to factor IX. — *Biochemistry (Wash.)*, 1970, 9, 1854-1861.
- [24] HEMKER H.C. et KAHN M.J. — Reaction sequence of blood coagulation. — *Nature (Londres)*, 1967, 215, 1201-1202.
- [25] FUJIKAWA K., LEGAZ M.E., KATO H. et DAVIE E.W. — *Biochemistry*, 1974, 13, 4508-4516.
- [26] COCHRANE C.G., REVAK S.D. et WUEPPER K.D. — Activation of Hageman factor in solid and fluid phases. A critical role of kallikrein. — *J. Exp. Med.*, 1973, 138, 1564-1583.
- [27] MOVAT H.Z. et OZGE-ANWAR A.H. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1974, 61, 861-878.
- [28] McMILLIN C.R., SAITO H., RATNOFF O.D. et WALTON A.G. — The secondary structure of human Hageman factor (factor XII) and its alteration by activating agents. — *J. Clin. Invest.*, 1974, 54, n° 6, 1312-1322.
- [29] DONALDSON V.H., GLUECK H.I., MILLER M.A. et MOVAT H.Z. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1976, 87, 327-337.
- [30] NEMERSON Y. — *Thrombos. Diathes. haemorrh.*, 1976, 35, 96-100.
- [31] NEMERSON Y. et PITLICK F.A. — Purification and characterization of the protein component of tissue factor. — *Biochemistry*, 1970, 9, 5100-5105.
- [32] NEMERSON Y. et ESNOUF M.P. — Activation of a proteolytic system by a membrane lipoprotein : mechanism of action of tissue factor. — *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1973, 70, 310-314.
- [33] HENSCHEN A. — *Acta Chem. Scand.*, 1962, 16, 1037-1042.
- [34] HENSCHEN A. — *Ark. Kemi*, 1964, 22, 355-364.
- [35] LATALLO Z.S., DUDEK G.A. et KLOCZEWSKI M. — A possible relation between the location of Dand E fragments and of the N-terminal disulphide knots in fibrinogen molecule. — *Scand. J. Haematol.*, 1971, 13, 37-41.
- [36] BLOMBÄCK B., HESSEL B., IWANAGA S., REUT J. et BLOMBÄCK M. — Primary structure of human fibrinogen and fibrin. I. Cleavage of fibrinogen cyanogen bromide. Isolation and characterization of NH₂-terminal fragments of the ("A") chain. — *J. Biol. Chem.*, 1972, 247, 1496-1512.
- [37] LAKI K. et GLADNER J.A. — Chemistry and physiology of the fibrinogen-fibrin transition. — *Phys. Rev.*, 1964, 44, 127-160.
- [38] LAKI K. — In Fibrinogen. — K. Laki, édit., York, 1968, 1-24.
- [39] LORAND L. — *Bioch. J.*, 1952, 52, 200-203.
- [40] BETTELHEIM F.R. et BAILEY K. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1952, 9, 578-579.
- [41] FOLK J.E. et CHUNG S.I. — Molecular and catalytic properties of transglutaminases. — *Adv. Enzymol.*, 1973, 38, 109-191.
- [42] LORAND L. et KONISHI K. — Activation of the fibrin stabilizing factor of plasma by thrombin. — *Arch. Biochem.*, 1964, 105, 58-67.
- [43] CHEN R. et DOOLITTLE R.F. — Identification of polypeptide chains involved in the cross-linking of fibrin. — *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1969, 420-427.
- [44] TAKAGI T. et IWANAGA S. — Polypeptide chains involved in the cross-linking of stabilized bovine fibrin. — *Biochem. Biophys. Res. commun.*, 1970, 129-136.
- [45] McKEE P.A., MATTOCK P. et HILL R.L. — Substructure of human fibrinogen, soluble fibrin, cross-linked insoluble fibrin. — *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1970, 66, 738-744.
- [46] TAKAGI T. et DOOLITTLE R.F. — Self-induced cross-linking of factor XIII. — *Biochem. Biophys. commun.*, 1973, 51, 186-191.
- [47] ROSENBERG R.D. — *Thrombos. Diathes. haemorrh.*, 1974, 33, 51-62.
- [48] SAS G., PEPPER D.S. et CASH J.D. — *Thromb. Diathes. haemorrh.*, 1975, 33, 564-572.
- [49] ESMON Ch. T., SADOWSKI J.A. et SUTTIE J.W. — *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, 4744-4748.
- [50] FERLUND P., STENFLO J., ROEPSTORFF P., THOMSEN J. — *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, 6133.
- [51] SUTTIE J.W. — Vitamins and hormones. — H. Co, édit., Londres, 1974, 32, 463-481.
- [52] OLSON R.E. — *Ibid.*, 483-512.
- [53] HEMKER H.C., VELTKAMP J.J., HENSEN A. et LIGER E.A. — Nature of prothrombin biosynthesis preprothrombinaemia in vitamin K deficiency. — *Nature (Londres)*, 1963, 200, 589-590.

HEMKER H.C. et KAHN M.J.P. — Coagulation : physiologie et exploration. — *Encycl. méd. chir., Paris*, Sang, 12-1976, 13000 C-40.